

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Институт экспериментальной медицины»
доктор медицинских наук, профессор



О.Н. Эргашев

2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Ивановой Анастасии Юрьевны

«Модуляция состава и метаболической активности микробиоты кишечника с помощью фармакологических и пребиотических средств в эксперименте», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

В последние годы активно проводятся медицинские и медико-биологические исследования по изучению микробиоты кишечника и производимых ею метаболитов. По мере накопления информации о ее взаимосвязи с большим количеством заболеваний, микробиота стала рассматриваться в качестве дополнительного диагностического критерия, а также — как перспективная терапевтическая мишень. Новые факты, свидетельствующие о взаимодействии представителей микробиоты (бактерий, архей, простейших, грибов и вирусов) с различными системами организма на молекулярном, клеточном, тканевом и органном уровнях, существенно

1

Вх. №	93				
«	28	»	ноября	2025	г.
ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России					
Диссертационный совет					

расширили представления о ее биологической роли в пищеварении, обмене веществ, формировании колонизационной резистентности, функционировании нервной системы, модуляции психического состояния и в других физиологических процессах. Особенности состава микробиоты, ее функциональное состояние и метаболический профиль могут служить ориентиром для прогнозирования вероятности возникновения, тяжести течения и эффективности терапии как инфекционных, так и соматических заболеваний. Помимо исследования состава микробима кишечника, сывороточного, кишечного и мочевого метаболомов, заслуживает внимания изучение интегральных показателей, во многом отражающих качество функционирования микроорганизмов в тонкой кишке, в частности – минорных компонентов выдыхаемого воздуха, появление которых обусловлено жизнедеятельностью микробиоты. Анализ концентрации водорода (H_2), метана (CH_4) и их соотношения в выдыхаемом воздухе является одним из перспективных неинвазивных подходов для отслеживания эффективности модулирующих влияний лекарственных препаратов и биодобавок на микробиоту кишечника.

Особую актуальность работе придает справедливое признание автора о том, что на сегодняшний день весьма сложно установить нормативы показателей для оценки микробиома и метаболома даже у здоровых испытуемых, необходимо исследовать особенности не только больных, но и вариабельность составов микробиоценозов и метаболомных профилей при отсутствии выявленных заболеваний с целью прогнозирования возможности их возникновения и изучения механизмов взаимодействия микробиоты с организмом. Также важно, что в литературном обзоре обсуждается, а в дальнейшем – самим диссертантом проводится сравнительное исследование относительно малоизученного влияния на микробиоту кишечника и метаболические процессы, лекарственных препаратов, биодобавок с

различными механизмами действия и диет с повышенным содержанием отдельных углеводных и жировых компонентов рациона питания.

Целью исследования явилось обоснование новых направлений модуляции функциональной активности микробиоты кишечника и ее таксономического состава с помощью фармакологических и пребиотических воздействий у крыс.

В представленной работе исследовано действие двух фармакологических препаратов с известными свойствами, принадлежащих к разным группам (антибиотик рифаксимин и химиопрепарат метронидазол), одной фармакологической субстанции (Q10) в составе биодобавки «Кудесан Форте», а также – двух групп диет: с различным составом жиров (4 варианта) и с различным содержанием фруктоолигосахаридов (две концентрации). Изучено воздействие этих факторов на состав микробиоты кишечника, показатели ее метаболической активности и способность к образованию низкомолекулярных веществ с регуляторной активностью у здоровых самцов крыс Вистар. Все воздействия были изучены в условиях хронического эксперимента.

Обращает на себя внимание разнообразие использованных автором методик. В ходе исследования применены аналитические, биохимические, микроскопические, морфометрические гистохимические и молекулярно-биологические методы. Описанные методики включали: изучение динамики массы тела и оценку пищевого поведения, морфометрическое и иммуногистохимические исследования стенки толстой кишки, измерение биохимических показателей крови, определение уровня короткоцепочечных жирных кислот и триметиламина в фекалиях, а также – концентрации коэнзима Q10 в крови и кале. Состав микробиома кишечника оценивали при помощи метагеномного исследования (16 S рPHK), а его функциональную активность - путем определения молекулярного водорода и метана в выдыхаемом воздухе у крыс.

На этапе обработки полученных экспериментальных данных были использованы адекватные поставленным задачам биоинформатические и статистические методы.

Впервые проведено комплексное исследование влияния антмикробных препаратов (рифаксими́на и метронидазола), коэнзима Q10,) и средств с пребиотической активностью (жирных кислот, фруктоолигосахаридов) на состав микробиоты кишечника и его функциональную активность с использованием дыхательного теста. Сопоставления изменений содержания молекулярного водорода и метана в выдыхаемом воздухе с составом микробиома у животных впервые позволило охарактеризовать влияние водородопродуцирующих и метанопродуцирующих бактерий на функциональное состояние организма-хозяина. Дополнительные аспекты последствий направленного воздействия на микробиоту были выявлены при исследовании влияния неперевариваемых фруктоолигосахаридов на массу тела, состояние слизисто-эпителиального барьера толстой кишки, содержание в фекалиях короткоцепочечных жирных кислот и биохимические показатели сыворотки крови у крыс.

В ходе работы впервые установлены особенности влияния антибиотика широкого спектра действия рифаксими́на, и антимикробного препарата метронидазола, ингибирующего рост некоторых простейших и большинства анаэробных бактерий, на состав и функциональную активность микробиоты кишечника.

Впервые выявлено, что рифаксимин способствует увеличению представленности *Lachnospiraceae* FCS 020 group, *Intestimonas*, *Akkermansia* и сохранению микробного разнообразия, на этом фоне увеличивается образование водорода и подавляет образование метана в выдыхаемом воздухе. Метронидазол уменьшает α - и β -разнообразие кишечной микробиоты, представленности *Prevotellaceae* Nk3D31, *Intestinimonas* не изменяет

продукцию водорода и метана. Таким образом, можно предполагать, более благотворное и безопасное воздействие рифаксими́на на организм.

Автором установлено, что жирорастворимый антиоксидант коэнзим Q10 при длительном приеме увеличивает относительную представленность *Ruminococcus*, *Dorea*, *Lachnospiraceae* AC 2044, снижает обилие рода *Helicobacter* в кишечнике. Как следствие этих изменений в организме хозяина происходит сдвиг «в сторону большего образования водорода и короткоцепочечных жирных кислот (уксусной и масляной)».

Автор высказывает предположение, о новом компоненте антиоксидантного действия коэнзима Q10 за счет повышения уровня эндогенного водорода.

Диссертантом впервые обнаружено, что ненасыщенные жирные кислоты в составе пищевого рациона могут увеличивать α - и β -разнообразие микробиоты кишечника, относительную представленность родов *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Ligilactobacillus*, *Rikenellaceae*, способствуя почти двукратному повышению образования эндогенного водорода и улучшению состояния слизисто-эпителиального барьера толстой кишки у крыс за счет возрастания площади структур, выделяющих муцин в криптах, и усиления экспрессии MUC-2.

Вариабельность микробиоты кишечника экспериментальных животных и доза зависимые эффекты исследуемых препаратов и биодобавок убедительно доказали необходимость индивидуального подхода при назначении терапии, модулирующей микробиоту.

«Обзор литературы» об изменениях микробиоты кишечника, как фактора патогенеза неинфекционных заболеваний, написан глубоко и подробно. Особый интерес представляет новая обобщенная информация о действии на микробиоту лекарственных препаратов с различными механизмами действия (статины, антидиабетические, гипотензивные средства, антидепрессанты, различные

группы антибиотиков и другие). Эти сведения ранее не учитывались и до сих пор не исследуются при разработке и апробации новых лекарственных средств.

Несмотря на то, что не все приведенные данные литературы напрямую связаны с целью и задачами исследования, они представляют большой интерес для понимания взаимного влияния организма и его микробиоты, которое осуществляется за счет лиганд-рецепторных взаимодействий, продукции сигнальных молекул, а также совместного участия в метаболических процессах.

Теоретическое значение диссертационной работы А. Ю. Ивановой состоит в том, что полученные данные позволяют рассматривать микробиоту кишечника в качестве мишени для воздействия не только на пищеварение, но и на метаболические процессы в целом.

Полученные данные вносят вклад в разработку новых направлений персонализированной медицины, связанных с коррекцией состава и функций микробиоты, приводящих к улучшению состояния организма и его лабораторных показателей, а в дальнейшем – к уменьшению проявления заболеваний и побочных эффектов вводимых лечебных препаратов, а также улучшению качества и продолжительности жизни пациентов с заболеваниями инфекционной и неинфекционной природы.

Практическая значимость определяется разработкой экспериментальной установки для выполнения дыхательного теста на лабораторных животных и предложенными подходами к коррекции состояния организма путем модуляции микробиоты кишечника. Установка применима для проведения доклинических испытаний препаратов, влияющих на микробиоту кишечника. Полученные результаты указывают на потенциальную возможность повышения эффективности лечения путем дифференцированного подхода к пациентам с различными метаболическими профилями микробиоты, определяемыми соотношением водород- и метанобразующих бактерий. Таким образом, подтверждается целесообразность персонализированного подбора средств,

влияющих на микробиоту, основанного на индивидуальных характеристиках микробиоты пациента.

Диссертационная работа изложена на 164 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературных источников и приложения. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 33 рисунками. Список литературы представлен 292 источниками, в том числе 31 – на русском и 261 – на иностранных языках. Структура диссертации классическая, оформление соответствует требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011.

Достоверность полученных результатов определяется оптимальным взаимодополняющими методами исследования. Правильное планирование экспериментов и статистическая обработка полученных результатов позволили диссертанту корректно сформулировать выводы.

Результаты опубликованы в журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации (2 работы), индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, Springer (1 работы) и тезисы докладов всероссийских и международных конференций (8 работ).

Автореферат диссертации адекватно отражает основные результаты и полностью соответствует разделам и положениям диссертационной работы. Автореферат оформлен в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011.

Полученные результаты исследования внедрены в образовательный процесс кафедры фармакологии факультета фундаментальной медицины медицинского научно-образовательного института МГУ имени М. В. Ломоносова (акт внедрения от 16.06.2025), использованы в отчете по государственному контракту от 09 января 2018 года № 04М-17/110-03 «Изучение механизмов ишемического повреждения миокарда и мозга с определением новых мишеней для фармакологической коррекции», а также применяются в научной работе и практической деятельности

лаборатории экспериментальной фармакологии Института экспериментальной кардиологии им. академика В.Н. Смирнова (НИИЭК им. академика В. Н. Смирнова), являющегося структурным подразделением Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е. И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦК им. академика Е. И. Чазова» Минздрава России) (акт внедрения от 02.06.2025).

При ознакомлении с диссертацией и авторефератом возникли следующие замечания:

1. В автореферате недостаточно подробно описаны методы исследования.
2. Ни в диссертации, ни в автореферате при описании схем экспериментов не указаны сроки введения лекарственных средств, биодобавок и применяемых диет. Соответствующая информация содержится только в описании результатов исследования.
3. Используемые фармакологические субстанции относятся к разным классам фармакологических веществ, каждая субстанция, кроме смеси фруктоолигосахаридов, применялось только в одной дозе, причем в разных сериях экспериментов измеряли различные параметры, что не позволило прямо сопоставить эффекты изученных фармакологических препаратов с применяемой биодобавкой и результатами воздействия диет.
4. В работе отсутствует информация об обосновании доз применяемых фармакологических и пребиотических средств в экспериментах на крысах.
5. При обсуждении собственных данных автор не сопоставляет результаты, полученные в разных сериях экспериментов, в результате чего выводы, в основном, представляют собой формальное перечисление статистически значимых результатов.

6. При описании методов статистической обработки данных автор указывает, что «корреляционные зависимости были рассчитаны с использованием коэффициента ранговой корреляции Пирсона» (стр.70). Данное выражение некорректно, поскольку коэффициент корреляции Пирсона вычисляется на основе исходных значений, а не их рангов. При этом исходные данные должны подчиняться закону нормального распределения.

7. Среди методов статистической обработки данных не названы те, которые использовались для анализа микробных сообществ. Упоминания о них, как и сведения о соответствующем пакете программ, содержатся лишь в главах, посвященных изложению результатов.

В диссертации и автореферате присутствуют **незначительные грамматические и синтаксические ошибки**, а также неточности и некорректные формулировки:

1. Использование сокращений заголовках, что не соответствует требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011.
2. На странице 33 диссертации приведено некорректное сокращение названия термина «грамотрицательные бактерии». Сокращени грам(–) является научным жаргоном и в академических текстах неприемлемо.
3. Ошибки в написании латинских названий микроорганизмов. Например, на с. 5 названия вида бактерии *Clostridioides difficile* написано с заглавной буквы. Правильное написание: название рода с заглавной буквы, а название вида – со строчной.
4. В работе неоднократно используются устаревшие названия микроорганизмов. В частности, филум *Proteobacteria* в современной классификации принято называть *Pseudomonadota*; филум *Firmicutes* – *Bacillota*. При цитировании работ прежних лет предпочтительно указывать оба названия: современное, а затем в скобках - устаревшее,

использованное автором. Например, *Proteobacteria* (синоним *Pseudomonadota*).

5. Не совсем понятно, что автор имеет ввиду, используя термин «лактобактерии»: молочнокислые бактерии (*lactic acid bacteria*) или лактобациллы. К тому же, диссертанту необходимо учитывать произошедшую в 2020 году реклассификацию лактобацилл, которые теперь относят к двум семействам с новыми названиями родов (Zheng, J. et al. (2020): 10.1099/ijsem.0.004107

В ходе рассмотрения диссертации и автореферата возникли следующие вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. Чем обусловлен выбор доз применяемых в работе фармакологических и пребиотических средств? Как эти величины соотносятся с соответствующими дозировками, рекомендованными для человека?

2. Для фиксации головы крысы в установке для получения пробы воздуха (опытный образец 2) применялся пластиковый хомут, плотно охватывающий шею сзади и с боков. Уверены ли Вы, что данный элемент не пережимал общие сонные артерии животного?

3. Чем Вы объясните, что применение диеты, содержащей 5% фруктоолигосахаридов ведет к повышению альфа-разнообразия микроорганизмов, а 25% – к снижению?

4. Какое из применяемых Вами воздействий вызывало наиболее грубое нарушение микробиоты и каковы механизмы этого воздействия?

5. Какие предположения об особенностях микробиоты можно сделать, основываясь на информации о концентрациях и соотношении содержания молекулярного водорода и метана в выдыхаемом воздухе и проведенного корреляционного анализа?

По своему содержанию, поставленным задачам, сформулированным выводам, теоретической и практической значимости диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п. 1. Выявление патогенетически обоснованных фармакологических мишеней и п. 5. Исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ивановой Анастасии Юрьевны на тему «Модуляция состава и метаболической активности микробиоты кишечника с помощью фармакологических и пребиотических средств в эксперименте», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований, решена актуальная задача по экспериментальному обоснованию возможности воздействия на функции организма-хозяина за счет модуляции микробиоты кишечника с использованием фармакологических и пребиотических средств.

Диссертационная работа полностью соответствует критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 16.10.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Иванова А. Ю. достойна присуждения искомой степени по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (биологические науки).

Отзыв подготовлен доктором биологических наук, доцентом, старшим научным сотрудником отдела нейрофармакологии имени академика РАМН С.В. Аничкова ФГБНУ «ИЭМ» Карповой Инессой Владимировной и доктором

медицинских наук, доцентом, заведующим лабораторией биомедицинской микрoэкологии отдела молекулярной микробиологии имени академика РАН А.А.Тотоляна ФГБНУ «ИЭМ» Ермоленко Еленой Игоревной.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании отдела нейрофармакологии имени академика РАН С.В. Аничкова ФГБНУ «ИЭМ», протокол № 1-11-25 от 26.11. 2025 г.

Отзыв составили:

доктор биологических наук, доцент,
старший научный сотрудник
отдела нейрофармакологии
имени академика РАН С.В. Аничкова
ФГБНУ «ИЭМ»

И.В. Карпова

доктор медицинских наук, доцент,
заведующий лабораторией
биомедицинской микрoэкологии
отдела молекулярной микробиологии
имени академика РАН А.А.Тотоляна
ФГБНУ «ИЭМ»

Е.И. Ермоленко

Подписи д.б.н., доцента Карповой И.В. и д.м.н., доцента Ермоленко Е.И.
заверяю



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины». 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12;
e-mail: iem@iemsrb.ru; тел: 8 (812) 234-68-68; web-сайт: iemsrb.ru